POPULATIONS MICROBIENNES DES BOIS

V. Influence de quelques sources de carbone et d'azote sur la décomposition d'une sciure.

par M. **F. MANGENOT** et Mme **J. REYMOND**.

RÉSUMÉ

Divers champignons lignivores sont confrontés aux populations de quelques sols par ensemencement sur une sciure de hêtre préalablement épuisée à l'eau, puis additionnée de diverses sources de C (glucose) ou d'N (NH_4, NO_3) ou des deux à la fois (asparagine, gélatine, complexe tannin-gélatine). Les aptitudes compétitives de ces champignons sont très inégales : le mieux adapté est favorisé par un apport d'N minéral ou de C, seuls, alors que sa croissance est plus ou moins retardée par l'N organique. Les autres espèces ne résistent à la concurrence vitale des populations du sol qu'en milieu carencé en N ou même n'y résistent jamais. Ces expériences expliquent la distribution des espèces lignivores dans certains sols et permettent de prévoir les conditions favorables au compostage des débris ligneux.

On sait que, sur le sol, la sciure peut être soumise à deux types opposés de dégradation : d'une part, en présence d'un lignivore, c'est-à-dire d'un Basidiomycète agent de pourriture blanche (corrosion), le pH et le taux de substances non hydrolysables s'abaissent et la teneur en N reste faible tandis qu'apparaissent des composés humiques peu polymérisés, en partie hydrosolubles. D'autre part, en l'absence de lignivore, le produit noircit peu à peu, le pH tend à s'élever, les taux d'N et de non hydrolysable augmentent mais il n'apparaît que de très faibles quantités d'acides humiques bruns.

Nous avons appris (JACQUIN et MANGENOT, 1959) comment l'acidité du milieu n'était pas seulement une conséquence du premier type de dégradation mais pouvait aussi favoriser son établissement et nous envisagerons ici l'influence de diverses sources d'N sur la nature du peuplement d'une sciure, et, par là-même, sur son mode de décomposition.

Le rôle de l'N dans la pourriture du bois a déjà fait l'objet de quelques travaux : en 1940, HUNGATE signalait l'aptitude des lignivores à une « utilisation économique » de l'N. Les doses très

faibles de cet élément contenues dans le bois suffisent à permettre la dégradation d'une énorme quantité de substances carbonées dont une partie seulement est utilisée par l'organisme actif, le reste devenant disponible pour la population commensale.

Rishbeth (1959), essayant de protéger le bois contre l'action corrosive de *Fomes annosus*, constate une certaine activité de divers composés azotés tels que $(NH_4)_2SO_4$ et de l'urée. Selon lui, ces substances stimuleraient la concurrence vitale exercée par la population non lignivore en lui fournissant l'N que *Fomes* serait seul à pouvoir tirer des combinaisons stables dans lesquelles il se trouve engagé au sein du bois. Toutefois les troncs de feuillus seraient moins susceptibles de tels traitements et les formes saprophytes, telles que *Peniophora gigantea*, y seraient peu sensibles.

Mais les travaux précédents concernent des bois entiers, compacts et difficilement pénétrables, renfermant une atmosphère riche en CO_2 (cf. Gundersen, 1961) et l'on peut supposer que, dans les sciures et surtout les copeaux, formant un milieu de structure plus lâche, plus aéré, plus facilement envahi par des formes non spécialisées, les lignivores sont soumis à des phénomènes d'antagonisme beaucoup plus sévères et rappelant davantage les processus qui se déroulent dans le sol.

Ainsi présenté, le problème qui nous intéresse n'est pas sans rappeler la théorie de Handley (1954) attribuant à une indisponibilité de l'N, bloqué dans des complexes tannin-protéine, la formation du mor. Il constate en effet que, dans ce cas, les tissus vasculaires lignifiés disparaissent plus vite que les parenchymes cellulosiques alors que l'inverse se rencontre dans le mull. Ainsi, la neutralité du milieu, sa richesse en N assimilable, stimulant l'activité biologique générale du sol, tendraient à limiter la croissance des lignivores spécialisés en les exposant à une concurrence vitale accrue.

Il nous a donc paru intéressant d'étudier les aptitudes compétitives de quelques lignivores vis-à-vis de populations globales du sol en utilisant des sciures diversement enrichies en N.

I. MÉTHODES

Au cours d'essais préliminaires, nous avons tenté d'éliminer de nos sciures les fractions les plus fragiles, susceptibles d'être utilisées par les saprophytes banaux, de manière à obtenir un milieu plus électif. Nous avons ainsi constaté qu'un produit lavé à l'eau chaude, puis froide, ensemencé à l'aide de copeaux attaqués par *Trechispora* sp., permettait le développement visible de ce dernier si on ne lui ajoutait que de l'eau distillée ou une solution

saline sans N. Au contraire, le milieu était submergé par les moisissures si on l'additionnait de peptone ou si l'on utilisait une sciure soumise, avant lavage, à une hydrolyse partielle par HCl 2*n*.

PRÉPARATION DE LA SCIURE

Nous avons employé, pour tous nos essais, de la sciure de Hêtre autoclavée à 120° pendant une heure dans 10 fois son poids d'eau distillée, puis lavée à froid jusqu'à obtention d'un filtrat incolore. Au cours de ce traitement, le taux d'N s'abaisse peu (de 0,17 à 0,14 %) alors que des quantités appréciables de substances aromatiques (en particulier de l'acide p.hydroxybenzoïque) sont éliminées (F. JACQUIN, non publié). Or on sait que ces corps sont facilement métabolisés par les moisissures du sol (cf. entre autres KNÖSEL, 1959).

La sciure lavée est séchée à l'air libre, puis introduite dans des fioles coniques de 150 ml, par prises voisines de 8 g et dont le poids de matière sèche est exactement déterminé. Après stérilisation 20 min. à 120°, on ajoute aseptiquement, à chaque fiole, 20 ml d'un des milieux nutritifs ci-dessous.

MILIEUX NUTRITIFS

On les prépare à l'aide de la solution de base suivante :

Phosphate monopotassique.	0,50 g.
Sulfate de Magnésium crist.	0,25 g.
Eau distillée	1 litre.

à laquelle on ajoute une source d'N et parfois de C. Nous avions observé en effet, d'emblée, une action très nette de l'N organique de l'asparagine et nous avons voulu lui comparer l'effet d'une source d'N minéral, seule ou associée à un apport de C facilement assimilable.

De plus, nous avons comparé l'action de la gélatine seule et d'un complexe tannin-gélatine préparé à partir de feuilles de *Rhododendron* var. hort. selon la technique de HANDLEY (loc. cit).

La composition des différents milieux nutritifs, en g par litre de solution de base, et la quantité d'N, en mg par fiole, sont indiqués dans le Tableau I. Les rapports C/N correspondants sont compris entre 78 et 250, mais ces valeurs n'ont qu'une signification discutable car nous ne savons pas dans quelle mesure le C et l'N du bois sont disponibles ; d'ailleurs ils le sont plus ou moins suivant les organismes en cause.

ENSEMENCEMENTS

Les lignivores sont ensemencés quelque trois semaines à l'avance sur solution aqueuse de Maltéa à 1,5% dans des fioles coniques renfermant des billes de verre. Au moment de l'emploi, le mycé-

TABLEAU I

Composition des milieux de culture

Milieu	A1	A2	N	NG	G	P	T
Source d'N g/litre	Asparagine 0,22	Asparagine 2,2	NH_4NO_3 1,33	NH_4NO_3 1,0	0	Gélatine 3,1	Complexe tannin-gélatine environ 300 mg/fiole+ 20 ml sol. de base
Source de C g/litre	0	0	0	Glucose 19	Glucose 25	0	
N en mg/fiole (1)....	12	20	20	18	11	20	41

(1) N total dont 11 mg sont apportés par la sciure.

lium est dilacéré par agitation de la culture et l'on dépose, dans chaque fiole de sciure stérile et humectée, 4 gouttes de la suspension ainsi obtenue.

Le jour même ou, plus souvent, 3-4 jours plus tard, on dépose, sur la sciure, 4 gouttes d'une suspension dense de sol dans l'eau distillée.

Caractéristiques des sols utilisés

Nous avons eu recours, pour la plupart de nos expériences, à deux sols provenant du Jardin botanique de la ville de Nancy et dont les caractéristiques sont les suivantes :

— un sol A, recouvert chaque année, de novembre à mars, d'une épaisse couche de feuilles mortes, de pH 7,1 et dont la population totale, dénombrée par culture sur plaque de gélose à l'extrait de malt comprenait, en millions par gramme de matière sèche :

Bactéries : 112 Champignons : 5,2 Actinomycètes : 5,2.

L'activité protéolytique, exprimée en millions de germes par gramme de sol sec atteint 17,3 ; l'activité cellulolytique est surtout fongique : 90% des grains de terre déposés sur silico-gel au papier donnent naissance à des Champignons, 3,4% à des Bactéries. Le nombre des fixateurs d'N atmosphérique par gramme de terre n'est que de 600.

— un sol B, régulièrement fumé et travaillé, de pH 7,4 et dont l'activité biologique, déterminée dans les mêmes conditions que ci-dessus, est représentée par les chiffres suivants :

Numération : Bactéries : 1900 ; Champignons : 1 ; Actinomycètes : 149.

Protéolyse : 235 ; Cellulolyse : Champignons 38% ; Bactéries, 17,2%.

Fixateurs d'N atmosphérique : 4200.

En outre, pour certaines expériences, nous avons eu recours à un humus brut, prélevé sous un peuplement de *Calluna vulgaris*, *Pinus sylvestris* et *Betula verrucosa*, en Forêt d'Argonne, ainsi qu'à un terreau de sciure.

Appréciation des résultats

Tous les 30 jours environ, jusqu'à 6 mois, on apprécie l'étendue des plages décolorées et on note l'aspect des cultures. De plus, après 3 et 6 mois, on détermine, sur un certain nombre de fioles, la perte de poids et le taux de lignine. A l'aide de ces deux données on calcule l'indice L selon la formule suivante :

$$L = \frac{\text{Taux final de non hydrolysable} \times \text{poids final de matière sèche}}{\text{Taux initial de lignine} \times \text{poids initial de matière sèche.}} \times 100$$

Le poids final de matière sèche est obtenu en recueillant la totalité de la substance restant dans la fiole analysée, en la séchant

TABLEAU II

Aspect macroscopique de sciures attaquées par Trechispora *sp. en culture pure ou mixte.*

Milieu	Sol A				Sol B				T	Humus brut			
	D	N	*n*	*a*	D	N	*n*	*a*	*a*	D	N	*n*	*a*
A1 Asparagine. = 0,22 ‰ ...	30 j	5	4	1	40 j	4	4	1		30 j	4	4	1
	75 j		5	1	50 j		4	1	2	75 j		4	1
	90 j		5	1	85 j		4	1	3	90 j		4	1
	Absence complète de mycéliums superficiels.												
A2 Asparagine = 2,2 ‰	30 j	4	0		40 j	4	0			30 j	4	0	
	75 j		0		50 j		0			75 j		0	
	90 j		1	+	85 j		0		2	90 j		0	
	Mycéliums superficiels abondants pendant les deux premiers mois.												
N NH_4IO_3	30 j	5	2	2	40 j	4	2	1	1	30 j	5	3	1
	75 j		5	3	50 j		3	1	3	75 j		5	3
	90 j		5	3	85 j		4	3	3	90 j		5	3
	Mycéliums superficiels rares pendant les premières semaines. Plus tard, développement luxuriant de *Trichoderma viride*.												

NG NH_4NO_3. + Glucose.					40 j 50 j 85 j	4	2 2 4	1 2 3	2 2 2				
	Même aspect que sur milieu N.												
G (Glucose).	30 j 75 j 90 j 120 j	6	? 2 2 3	1 1 1 1	40 j 50 j 85 j 120 j	6	2 2 3 ?	+ 1 1 1	1 1 1 2				
	Absence de mycéliums superficiels.												
P (Gélatine)	30 j 75 j 90 j 120 j	6	1 3 4 6	2 2 2 2	40 j 50 j 85 j 120 j	6	1 3 5 6	1 1 2 3	1 2 3 3				
	Mycéliums fuligineux bien développés jusqu'à trois mois.												
T (Tannin-gélatine)					40 j 50 j 85 j 120 j	4	3? 0 0 0	+	+ + + 1				
	Mycéliums superficiels plus ou moins développés.												

D = Durée de culture en jours ; N = nombre de répétitions ; *n* = nombre de fioles présentant une **décoloration au** moins partielle ; *a* = importance de la décoloration dans la fiole la plus atteinte, figurée par les signes suivants : + très **réduite;** 1 : env. 25 % ; 2 : env. 50 % ; 3 : totale.

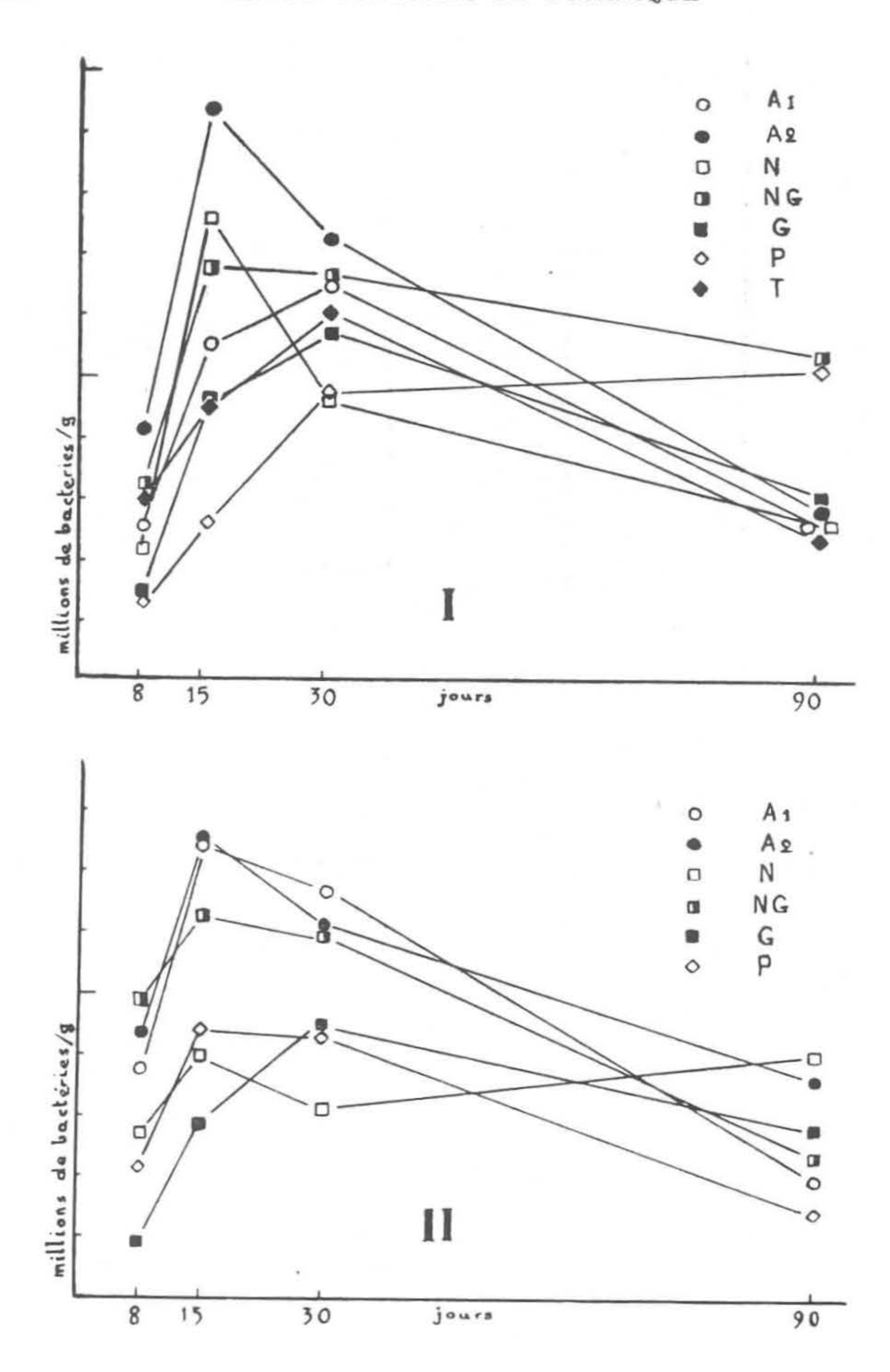


Fig. 1. — Graph. I : Populations bactériennes des sciures en cultures mixtes *Trechispora* + sol.
Graph. II. : Populations bactériennes des sciures ensemencées par une suspension de sol.

à la température ordinaire et, après pesée, en établissant, sur une fraction aliquote, son taux d'humidité (étuve à 105°).

Sur une autre fraction, on détermine la teneur en substances non hydrolysables (=lignine dans le cas d'une sciure fraîche) par la méthode de FOREST (cf. JACQUIN et MANGENOT, loc. cit.). Enfin la totalité du résidu d'hydrolyse est minéralisée selon KJELDAHL en vue du calcul du taux d'N dans la lignine. Celui-ci présente, d'un milieu à l'autre, des différences intéressantes mais faibles et la déduction des protéines de la lignine ne change pas le sens de nos résultats. D'ailleurs nos idées sur la nature et le taux d'N dans « l'insoluble » d'un bois altéré sont encore imprécises et, sauf indication contraire, le chiffre représentant la lignine est, en réalité, celui des substances non hydrolysables totales. Cependant lors de certaines expériences, des divergences un peu plus importantes se sont fait jour entre les taux d'N de l'insoluble, sur les différents milieux, et nous indiquons alors une « lignine » corrigée par déduction des protéines ($N \times 6,25$).

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE

Les bactéries ont été dénombrées par examen direct après 7, 15, 30 et 90 jours. La technique utilisée n'est autre que la méthode, classique en microbiologie du sol, de JONES et MOLLISON.

Lors de l'analyse, le contenu de la fiole choisie est homogénéisé, dans toute la mesure du possible, par agitation prolongée. On prélève ensuite une petite quantité de sciure qui servira, d'une part à la détermination du taux d'humidité, d'autre part à préparer une suspension au 1/200e dans la gélose à l'eau (1,5%), liquéfiée et filtrée. Cette suspension est versée dans la cellule d'un hématimètre et, après solidification, le film gélosé est transféré sur une lame porte-objet, séché, coloré à l'érythrosine phéniquée et monté sous baume. La numération porte sur une vingtaine de champs et les résultats sont rapportés au gramme de sciure sèche.

Il n'était pas possible, pour des raisons matérielles évidentes, d'analyser, à chaque période, l'ensemble de nos cultures ; de plus, l'homogénéisation de la sciure semble entraîner des modifications dans son peuplement microbien ; en particulier, les mycéliums aériens disparaissent pendant plusieurs semaines. Aussi avons-nous choisi, à chaque période d'analyse, une fiole intacte de chaque série. Il peut en résulter une certaine confusion entre fluctuations individuelles et modifications évolutives, mais, en même temps, nous nous mettons, en partie, à l'abri de ces mêmes fluctuations puisque, en fin de compte, toutes nos fioles sont analysées à une date ou une autre.

CHOIX DES CHAMPIGNONS LIGNIVORES

Pour la plupart de nos essais, nous avons utilisé un Champignon lignivore puissant, isolé par l'un de nous de copeaux pour-

rissants (cf. JACQUIN et MANGENOT, loc. cit.) et désigné sous le nom de *Trechispora* sp.

Nous lui avons comparé ultérieurement cinq espèces récemment isolées par projection de spores : *Stereum purpureum* et *S. hirsutum*, récoltés sur bois dur de hêtre ; *Peniophora incarnata* provenant d'une vieille souche de sureau ; enfin *Radulum orbiculare* et *Poria mucida*, recueillis sur bois pourri de hêtre.

II. RÉSULTATS

A. CAS DE *TRECHISPORA* sp.

L'ensemencement d'un milieu complexe, tel que la sciure, à l'aide d'une suspension de sol, même très concentrée, ne fournit pas des résultats aussi constants et homogènes que l'usage de cultures pures. Pour des raisons que nous ne pouvons pas préciser, mais qui se ramènent sans doute, en partie, au simple hasard, deux fioles inoculées exactement dans les mêmes conditions montrent parfois des espèces fongiques différentes. De plus, les populations d'un sol donné présentent des fluctuations saisonnières dont il importait de tenir compte. Aussi avons-nous répété nos expériences en mars, mai, juin et novembre 1960 et en février et mars 1961 pour les milieux A1 et A2 ; en juin et novembre 1960, février et mars 1961 pour le milieu N. Les autres milieux n'ont été étudiés qu'en février-mars 1961.

Or les résultats de ces essais, dont chacun comportait 4 à 6 répétitions, se sont montrés beaucoup trop concordants pour que nous les rapportions ici en détail. Nous nous contenterons donc de publier la série la plus complète d'observations, dont tout le mérite revient à l'un d'entre nous (Mme J.R.).

1. — ASPECT DES CULTURES

Les résultats de nos observations sont résumés dans le tableau II. A chaque époque et pour chaque milieu nous indiquons par un premier chiffre (colonne *n*) le nombre de fioles présentant une atteinte de pourriture blanche et par un second chiffre (colonne *a*) l'étendue de celle-ci dans la fiole la plus décomposée. Cette dernière indication est donnée également pour les fioles-témoins ensemencées par *Trechispora* seul.

Sur les milieux pauvres en N (A1 et G) la sciure garde, pendant les premières semaines, un aspect normal, aucune moisissure ne vient la recouvrir, puis, dès le 15e jour, des taches blanches y apparaissent mais ne s'étendent ensuite que fort lentement de sorte que la décoloration reste partielle même après 3 mois. En culture pure cependant, *Trechispora* atteint un assez beau déve-

loppement, la sciure est largement décolorée après 3 mois (A1) ou 4 mois (G). Enfin, ensemencé par une suspension de sol seulement, le milieu reste inchangé ou brunit légèrement.

Sur les milieux enrichis en N, l'inoculation par une suspension de sol est toujours suivie d'un développement plus ou moins important de mycéliums superficiels blanchâtres ou fuligineux, la sciure s'assombrit et peut même devenir noire, mais, suivant la source d'N apportée, la pourriture blanche intervient après des temps très différents.

En présence de nitrate d'Ammonium (milieux N et NG), la sciure se colore lentement, les moisissures superficielles sont rares et *Trechispora* se manifeste dès 15 jours (N) ou 1 mois (NG). Le substrat prend peu à peu l'aspect d'une mosaïque de plages blanc jaunâtre, brunes et noires, puis (3 mois) il devient entièrement gris clair et, bien souvent, se couvre de fructifications de *Trichoderma viride*. En culture pure, *Trechispora* a tout envahi et décoloré dès le 2e mois, tandis que, ensemencée par la seule suspension de sol, la sciure noircit toute entière en 15 jours (NG) à 2 mois (N).

L'asparagine à forte dose (A2), au contraire, interdit à peu près toute manifestation de *Trechispora* pendant les trois premiers mois. La sciure brunit en 1-2 semaines et se couvre d'un abondant duvet fuligineux ; elle peut même finalement devenir entièrement noire. Pourtant, en culture pure, *Trechispora* croît de façon satisfaisante et le substrat est largement décoloré après 3 mois. Or, l'inhibition constatée dans les ensemencements mixtes n'est que temporaire et, après 6 mois, les fioles montrent une pourriture blanche plus ou moins étendue.

La gélatine, à dose d'N égale (milieu P), exerce tout d'abord un effet analogue à celui que nous venons de décrire sur A2 : la sciure brunit, des moisissures banales se développent, puis *Trechispora* fait son apparition, parfois de façon explosive et, après 3 mois, la décoloration du produit est presqu'égale à celle que nous avons observée en présence d'N minéral.

Enfin le complexe tannin-gélatine (T) permet une certaine croissance des moisissures banales et la sciure noircit dès le deuxième mois, mais la pourriture blanche paraît inhibée et ne se manifeste pas, même après 6 mois. En culture pure, la croissance de *Trechispora* est peu apparente, le produit grisonne et il faut attendre 4 mois pour qu'apparaissent de petites plages décolorées.

2. — POPULATIONS BACTÉRIENNES

On trouvera, figurés dans les Graphiques I et II, les résultats de nos numérations. Nous avons déjà signalé les réserves auxquelles ces dernières étaient sujettes et nous nous abstiendrons d'en

tirer des conclusions trop détaillées. Cependant l'examen de nos courbes fournit quelques indications utiles.

1° La population bactérienne des sciures, même enrichies, reste peu abondante et prolifère lentement. La plupart des courbes présentent en effet un maximum vers 15 jours - 1 mois puis elles s'abaissent et le nombre des germes s'établit à 3 mois entre 2 et 3 millions par g de sciure sèche, alors qu'on les compte par centaines de milliards dans les feuilles pourrissantes.

2° Si l'on examine les témoins, on trouve un parallélisme remarquable des courbes A1, A2 et NG (Graph. II) apportant à la fois N et C facilement assimilables. Il est d'ailleurs à remarquer que la dose d'asparagine n'a pas d'influence notable sur l'évolution du peuplement bactérien ni même sur son importance numérique.

La courbe correspondant au milieu P (gélatine) présente la même allure générale, mais la population est à tout moment beaucoup moins nombreuse comme si la gélatine avait une action stimulante moins marquée que l'asparagine.

Sur le milieu G, sans apport d'N, la population est aussi réduite que dans le cas précédent, plus même au cours des premières semaines.

Enfin, et c'est peut-être le point le plus remarquable, le milieu N porte jusqu'à 1 mois des populations presqu'aussi réduites qu'un milieu carencé en N. La sciure autoclavée et lavée apparaît donc. vis-à-vis des bactéries comme déficiente non seulement en N mais aussi en C.

3° Dans les fioles mixtes, les populations maximales se rencontrent chez les milieux riches en N, organique ou minéral, sans doute parce que, dans ce dernier cas, *Trechispora* libère une quantité suffisante de C dont bénéficient les bactéries. Avec le temps, leur nombre diminue, lentement chez les fioles ayant reçu C et N (A2 et NG), brusquement en présence d'N minéral seul (N). Or il faut noter qu'à 5 mois les pH s'établissent à 3,2 pour le milieu N contre 5,9 et 4,3 respectivement pour A2 et NG.

Dans les milieux carencés en N (A1 et G) la croissance des bactéries est réduite ; les maximas sont plus faibles et surtout plus tardifs que précédemment et ces deux caractéristiques se retrouvent chez le milieu T, renfermant pourtant la dose d'N la plus élevée. Cette limitation est sans rapport avec le pH qui. à 5 mois, est encore de 4,8 (A1) et 6,6 (T).

Enfin la gélatine, comme chez les témoins, a un effet stimulant faible, au début, mais — et le même phénomène se retrouve chez des fioles ensemencées à l'aide du sol A — la population continue de croître au moins jusqu'à 3 mois, époque à laquelle

TABLEAU III

Décomposition de la Lignine

(Ensemencement mars 1961 ; sol B, *Trechispora* ; taux de lignine dans la sciure lavée : 26,9 %)

Durée des cultures : 3 mois					6 mois			
Milieu	Perte de poids %	Lignine %	N % de la lignine	I.	Perte de poids %	Lignine %	N % de la lignine	I.
A1	14	25,1	0,38	80	23	24,4	0,40	70
A2	10	26,2	0,57	88	10,2	25,2	0,51	84
N	18,4	23,2	0,60	70	46	21,8	0,71	45
NG	13,2	25,1	—	81	28,6	22,1	—	58
G	12,8	24,6	—	80	21	23,2	—	68
P	10	26,4	—	88	24	26	—	73
T	11,2	26,3	—	87	37	34	—	80
	Témoins sol B							
A1					30,6	38,8		100
A2					31,1	39,1	—	100
	Témoins *Trechispora*							
N	38	21,9		50	47,8	—	—	—
T	—	—	—	—	48	28,6	0,70	55

TABLEAU IV

Action de divers Champignons lignivores sur la sciure
(Ensemencement nov. 1960 ; sol A ; durée 6 mois ; taux de lignine après déduction des protéines)

Espèces	Type de culture	Milieu	Aspect des cultures			Perte de poids %	Lignine %	N dans la lignine %	L
			N	*n*	*a*				
Stereum	témoin	A1	2	2	1	—	—	—	—
hirsutum......	mixte	A1	5	0	—	4,5	27,3	0,30	97
	mixte	A2	4	0	—	11	29,4	0,48	97
Stereum	témoin	A1	2	1	1	—	—	—	—
purpureum ...	mixte	A1	4	0	—	3,9	28,2	0,33	100
	mixte	A2	4	0	—	11,8	29,8	0,44	97
Poria	témoin	A1	2	2	3	—	—	—	—
mucida.......	mixte	A1	5	0	—	4,6	27,6	0,28	97
	mixte	A2	4	0	—	14	30,7	0,50	98
Radulum ..	mixte	A1	5	4	2	13,1	21,2	0,34	68
orbiculare	mixte	A2	5	0	—	9,2	26,6	0,49	98
Peniophora	mixte	A1	5	5	2	9	27,1	0,52	91
incarnata......	mixte	A2	5	0	—	12,3	27,8	0,43	91
Sol A..........	témoin	A2	—	—	—	—	27,4	0,27	—

N = nombre de répétitions ; *n* = nombre de fioles présentant des décolorations ; *a* = extension de la pourriture blanche : 1 : env. 25 %, 2 : env. 50 % ; 3 : totale.

TABLEAU V

(Ensemencement mai 1960 ; *Trechispora* ; sol B et sol C = terreau de sciure. Lignine dosée par attaque sulfurique après traitements à l'eau chaude, HCl 2*n* à chaud et alcool-benzène 1/1).

Type de culture	Inoculum	Milieu	Durée (en jours)	Lignine %	N % dans la lignine
tèmoin	sol C	A2	30	20,6	0,53
témoin	sol C	A2	90	19,5	0,46
témoin	sol B	A2	90	19,7	0,48
témoin	*Trechispora*	N	90	12,2	0,62
témoin	*Trechispora*	A1	90	9,8	—
mixte	sol C	A1	30	15,4	0,34
mixte	sol C	A1	90	16,0	0,39
mixte	sol C	A2	30	19,8	0,47
mixte	sol C	A2	90	17,5	0,56
mixte	sol B	A2	90	13,8-15,9	0,52
Sciure lavée non ensemencée				20,4	

l'action de *Trechispora* s'intensifie sans que, pour autant, le pH s'abaisse : il est encore de 6,7 à 5 mois.

3. — Dégradation de la lignine

Lorsqu'une sciure est attaquée par une population complexe, il est possible que la décoloration du produit accompagnant les phénomènes de corrosion soit masquée par la formation de pigments sombres, de sorte qu'un simple examen microscopique fournit des renseignements dont il faut chercher la confirmation dans l'analyse chimique.

On sait que la pourriture blanche se distingue des autres pourritures par le fait que la lignine est détruite en même temps que les autres constituants du bois ; mais ces derniers peuvent disparaître plus vite que la première, même en culture pure et, à plus forte raison, sous l'effet d'une population mixte. L'étude de la seule évolution du taux de lignine risque alors de fournir des indications insuffisamment précises et doit être complétée par le calcul du coefficient L.

Les résultats de nos analyses sont consignés dans le Tableau III. Ils montrent que, si les populations du sol sont capables de dégrader parfois jusqu'à 30% de la sciure en 6 mois, elles ont une activité faible ou nulle sur la lignine ; le plus souvent, celle-ci demeure intacte (L=99—100) bien que des baisses atteignant 10% soient parfois enregistrées.

Par ailleurs, on retrouve l'effet protecteur de l'N organique à dose suffisamment élevée (A2 et même P) avec des indices de lignine voisins de 80 après 6 mois. Les milieux A1 et G, carencés en N sont plus favorables à *Trechispora* dont l'activité reste pourtant limitée (L=68—70 en 6 mois) tandis que l'N minéral, surtout sans glucose, permet la destruction, dans le même laps de temps, de plus de 50% de la lignine.

Enfin, le milieu T ralentit la corrosion du bois, comme les milieux riches en N assimilable (L=80 à 6 mois), alors que, en culture pure, il est aussi favorable à *Trechispora* que le milieu N.

B. AUTRES ESPÈCES.

Isolé à partir de copeaux reposant sur le sol et par conséquent soumis, dans la nature, à la concurrence de germes très nombreux et divers, *Trechispora* sp. jouit probablement d'une aptitude compétitive élevée.

Nous lui avons comparé 5 autres espèces appartenant aux principaux stades lignivores de la pourriture du bois :

Stereum purpureum et *S. hirsutum*, plus ou moins précoces,

voire même parasites, attaquant, en tout cas, des bois durs, à l'abri des populations du sol.

Peniophora incarnata, commun sur toute sorte de bois,

Radulum orbiculare et *Poria mucida*, présents sur bois tombés à terre, le second pouvant même s'étendre sur les mousses et les cailloux du voisinage.

Pour toutes ces espèces, nos recherches se sont limitées, hormis quelques essais préliminaires, à deux expériences dont la première comparait entre eux les milieux A1 et A2. Ses résultats sont consignés dans le Tableau IV. Ils indiquent, comme ceux du Tableau II, le nombre de répétitions, le nombre de fioles décolorées et l'étendue de la pourriture blanche ainsi que, en outre, la perte de poids, le taux de lignine, le teneur en N de celle-ci et l'indice L.

Seules, deux espèces, *Radulum orbiculare* et *Peniophora incarnata*, sont capables, sur milieu pauvre en asparagine, de surmonter la concurrence vitale des populations du sol. En présence d'une dose plus élevée d'N organique aucun des 5 lignivores n'est actif. On remarquera encore que, si le taux de lignine est nettement abaissé en présence de *Radulum*, l'activité de *P. incarnata* est beaucoup plus réduite.

Une seconde expérience, en avril 1961, comparait les effets des milieux A2 et N en utilisant le sol B. Elle nous a fourni des résultats entièrement négatifs et nous nous contenterons de résumer ceux-ci dans les chiffres suivants :

Sur le milieu A2, la perte de poids, beaucoup plus réduite que dans le cas précédent, variait entre 3,6 et 4,8% ; le taux de lignine s'établissait entre 25,3 et 26,8%, après déduction des protéines non hydrolysables (N dans la lignine = 0,36 à 0,39) ; enfin l'indice L, compris entre 90 et 96,5, montre qu'ici encore une dose forte d'N organique inhibe le développement de la pourriture blanche.

Sur le milieu N, les pertes de poids dépassent 30% (33,5 à 38,5) mais le taux de lignine, après déduction de protéines particulièrement abondantes (N dans la lignine =0,82 à 1%), s'établit encore à 32—35% de sorte que l'indice L atteint 78 à 87. Or les fioles témoins de ce même milieu, ensemencées par le sol B seul, fournissent des chiffres voisins (perte de poids : 29,3% ; lignine : 33,4% ; L=89) sauf pour le taux d'N dans la lignine qui reste faible : 0,51%.

III. DISCUSSION

Les phénomènes régissant l'équilibre d'une association entre microorganismes sont fort nombreux et interfèrent de façon complexe. Les uns sont en quelque sorte internes au peuplement, c'est-à-dire qu'ils résultent de sa composition même ; ils sont alors, dans le cas d'une population évolutive, comme on en rencontre dans les débris végétaux frais soumis jusqu'à un certain point au hasard des ensemencements. D'autres sont externes : température, aération, éclairement, humidité. Malgré les précautions prises, nos fioles n'ont certainement pas connu, toutes, des humidités identiques ni constantes. Les fioles atteintes de pourriture blanche s'enrichissent en eau de métabolisme au point de n'exiger aucun apport pendant des mois ; les autres doivent recevoir toutes les 4-6 semaines quelques millilitres d'eau distillée stérile, sous peine de se dessécher. Le temps s'écoulant entre les deux ensemencements paraît aussi revêtir une grande importance, surtout dans le cas de faibles volumes de substrat ; certains essais en cours paraissent montrer que pour 4 g de sciure, un délai de 8 jours inverse les résultats que nous venons de présenter : la pourriture blanche est stimulée par la dose forte d'asparagine (A2) plus que par l'N minéral, lui-même plus favorable que le milieu A1.

On conçoit qu'une expérience comme la nôtre exigerait, pour permettre d'en tirer tous les enseignements, de très nombreuses répétitions que nos moyens limités ne nous ont pas permises. Malgré ces réserves, quelques données se dégagent de notre travail.

On admet généralement que les débris végétaux tombés sur le sol sont d'abord envahis par des espèces glucophiles (Phycomycètes, Aspergillacées) et surtout un grand nombre de Bactéries. Plus tard, quand les glucides les plus facilement utilisables sont épuisés, apparaissent des Ascomycètes (*Chaetomium*, *Fusarium*) ou d'autres formes cellulolytiques et finalement interviendraient les Basidiomycètes lignivores. Ceci est valable surtout dans le cas de débris herbacés, mais se retrouve aussi plus ou moins nettement dans le cas des sciures (MANGENOT, 1952), la durée et l'activité des premiers stades augmentant avec la richesse du milieu en aliments solubles. Dans les bois, dans les pailles (WARCUP, 1959), dans les litières de résineux (MIKOLA, 1956), les lignivores tiennent sans doute une place plus importante et apparaissent plus tôt que dans les feuilles de Dicotylédones herbacées. Dans nos expériences, l'autoclavage de la sciure provoque des hydrolyses libérant une certaine quantité d'aliments solubles et ces derniers sont entraînés au moment des lavages ultérieurs. En tous cas, nos sciures se comportent comme un substrat carencé en C et en N facilement

assimilables réalisant ainsi, théoriquement, les conditions nécessaires à l'épanouissement des lignivores.

Si à un tel milieu on ajoute seulement des sels minéraux, à l'exclusion de tout apport organique, la déficience en C assimilable limite la croissance des Bactéries et des moisissures (milieu N, témoins sol). Un lignivore doué d'une aptitude compétitive suffisante, rencontrant une concurrence vitale réduite, peut alors se développer activement : dans certaines de nos fioles la pourriture blanche est déjà visible après 8 jours. Il dégrade alors des quantités de polymères carbonés, très supérieures à ses besoins alimentaires — ainsi que le faisait remarquer HUNGATE — et ses déchets permettent l'épanouissement d'une population où les moisissures l'emportent sur les bactéries, par suite, entre autres, de l'acidification du milieu.

Si nous ajoutons à la sciure une source de C seul (milieu G) la croissance des populations du sol est encore plus réduite que dans le cas précédent : le nombre des bactéries, chez les témoins, n'atteint pas un million à 8 jours ; aucun mycélium n'est visible et pourtant chaque fiole contient encore 11 mg d'N. Sans doute celui-ci est-il engagé dans des combinaisons complexes d'où il n'est que très partiellement libéré. Là encore, le lignivore, à l'abri d'une concurrence vitale trop intense, manifeste rapidement son activité, mais cette dernière est limitée pour des raisons dont nous discuterons plus loin.

Les apports simultanés de C et d'N enfin ont des actions très variables. L'asparagine exerce chez les témoins un effet stimulant hors de proportion avec les quantités de C et d'N qu'elle fournit : les deux doses utilisées, bien qu'étant dans le rapport de 1 à 10, permettent l'épanouissement de populations bactériennes sensiblement égales ; la dose forte a cependant un effet plus prolongé, le nombre de bactéries à 3 mois étant de 80% supérieur en A2, comparé à A1. Par contre, l'effet sur les moisissures est moins uniforme ; elles n'apparaissent pas plus sur le milieu pauvre A1 que sur le milieu G, alors que leur croissance est luxuriante en A2. C'est exactement l'inverse pour le lignivore : à faible dose il atteint un développement limité comme sur le milieu G (les indices L à 6 mois sont égaux) alors qu'il disparait à forte dose. Mais cette disparition est seulement temporaire, le champignon garde une activité ralentie jusqu'au moment où la respiration et la synthèse de composés résistants auront suffisamment appauvri le milieu pour y créer les conditions nécessaires à l'épanouissement de la pourriture blanche. Cette dernière pourra alors se développer d'autant mieux qu'elle disposera de plus d'N. Bien entendu, ce moment favorable sera plus ou moins précoce suivant la composition et l'activité des populations du sol. En effet l'expérience relatée

dans le Tableau V montre, chez une sciure inoculée à l'aide d'un compost de sciure, des taux de lignine à 6 mois de 17,5 en A2 contre 16,0 en A1 alors que, après ensemencement par le sol B, biologiquement très actif, et à prédominance bactérienne, le taux en A2 n'est plus que de 13,8-15,9.

Le milieu NG, chez les témoins, exerce d'abord sur moisissures et bactéries un effet stimulant du même ordre de grandeur que le milieu A2, puis il devient moins favorable et la population s'abaisse finalement jusqu'au niveau des milieux les plus pauvres. Tout se passe comme si, dans le liquide nutritif équilibré en C et N (C/N=21), le glucose avait été consommé dans les premières semaines de culture. On se trouve alors ramené aux conditions du milieu N et la pourriture blanche apparaît après un léger retard : les indices L à 3 mois sont, en effet, respectivement de 81 (NG) et 70 (N). Mais l'activité bactérienne, bénéficiant de celle du lignivore et d'un abaissement modéré du pH, se poursuit beaucoup plus longtemps.

La gélatine, si elle est peu favorable aux bactéries, l'est davantage aux moisissures et il en résulte un retard appréciable de l'activité lignivore, moins toutefois qu'avec une dose égale d'N de l'asparagine.

Enfin le rôle du complexe tannin-gélatine est plus obscur. On sait que les produits de ce type sont très résistants aux actions biologiques (Basaraba, 1960) et, en effet, bien qu'il reçoive près de trois fois plus d'N et de C que le milieu A2, le milieu T héberge des populations bactériennes aussi réduites que le milieu G, sans N (Graph. I). Cependant la pourriture blanche ne se manifeste pas en culture mixte, même après 6 mois (L=80), sans qu'on puisse déceler une quelconque action toxique du complexe sur *Trechispora* : en culture pure, l'activité de ce dernier est même aussi intense que sur le milieu N (Tableau III). Comme, par ailleurs, l'activité biologique globale est très appréciable, se traduisant par une perte de poids de 37% en 6 mois (la plus élevée de toutes celles que nous ayons enregistrée à l'exception des cas de pourriture blanche), comme des moississures se développent de façon visible, il faut admettre que l'N du complexe n'est pas tellement indisponible, sauf pour les bactéries — et par là-même pour les végétaux supérieurs, comme l'a montré dernièrement Handley (1961). — On peut donc admettre que, ici encore, l'inhibition de *Trechispora* s'explique par des phénomènes de concurrence vitale, mais on comprend moins facilement l'effet protecteur du complexe sur la lignine, effet qui, au premier abord, s'accorde mal avec les observations de Handley (1954). A dire vrai, nos expériences ont été menées dans des conditions trop différentes de celles où cet auteur a travaillé pour que les divergences de nos résultats soient inexplicables.

IV. CONCLUSIONS

En résumé, un apport de C ou d'N, seuls, ne suffit pas à entraver la manifestation de la pourriture blanche ; un apport simultané des deux éléments la retarde plus ou moins, l'N organique ayant, à ce point de vue, un effet plus marqué qu'un mélange de glucose et d'N minéral. A la règle classique suivant laquelle l'épuisement des sucres simples permet l'installation des formes spécialisées s'en ajoute donc une autre, fondée sur la pauvreté des bois en N ou sur l'indisponibilité de cet élément, et ce deuxième facteur paraît plus important que le premier.

Ces observations semblent en accord avec celles de nos prédécesseurs, mais, en réalité, les faits sont plus complexes. La sciure lavée, malgré sa pauvreté, ne présente pas de carence absolue : elle est capable de répondre aux exigences de certains habitants du sol presqu'aussi bien qu'à celles des lignivores. En effet, les témoins ensemencés par le sol B seul (Tableau III) perdent 30% de leur poids en 6 mois, même sans apport notable d'N (A1) et, dans le tableau V, l'activité de *Trechispora*, en culture pure, est au moins aussi considérable sur ce même milieu A1 que sur le milieu N (taux de lignine à 6 mois : 9,8% et 11,7% respectivement). On peut se demander si, dans ces conditions, on est en droit de parler d'une aptitude supérieure du lignivore à l'utilisation économique de l'N. Bien mieux, les populations bactériennes ne sont pas plus nombreuses en présence d'une dose élevée d'asparagine que sur milieu pauvre.

A l'opposé, l'activité de toutes les cultures mixtes (sauf sur milieu T et sur milieu N à 6 mois) est inférieure à celle des témoins. Tout se passe donc comme si les différents éléments des populations mixtes exerçaient entre eux des phénomènes de compétition réciproque pour certains aliments essentiels, tels que l'N. Il en découlerait une réduction de l'activité biologique globale, réduction intéressant davantage, soit le lignivore, soit les populations du sol, suivant la nature des sources d'N et probablement aussi de C fournies au milieu et suivant le rapport C/N de celui-ci.

Nos observations suggèrent encore que cette compétition s'exerce plutôt entre moisissures et lignivore qu'entre celui-ci et bactéries. Sans doute ne faut-il pas donner à cette remarque une portée trop générale — les bactéries sont infiniment variées dans leurs besoins et leurs activités — mais elles paraissent, dans l'ensemble, se comporter plutôt en commensales des lignivores qu'en antagonistes. Nous verrons d'ailleurs, dans un prochain travail, que la population bactérienne peut être maximale, dans la nature, au voisinage des plages décolorées des sciures.

Nous avons eu en vue, jusqu'ici, le seul *Trechispora* sp. Nos

expériences consacrées à d'autres espèces sont bien peu nombreuses mais confirment toutefois les observations de RISHBETH : les aptitudes compétitives des lignivores sont inégales, mais en général faibles, surtout chez les formes parasites ou précoces. Ces aptitudes, même dans les cas les plus favorables, s'expriment seulement en milieu très pauvre, le simple apport de NH_4NO_3 suffisant à masquer l'activité du lignivore, même si cette dernière n'est pas entièrement supprimée. Dans la nature, ces champignons sont capables de poursuivre leur action corrodante, pendant un certain temps, après l'incorporation au sol des bois qu'ils avaient déjà colonisés. Mais il doit exister, dans certaines terres tout au moins, des formes différentes et mieux adaptées ; enfin, nos connaissances sur l'activité lignivore des bactéries sont encore rudimentaires.

Ainsi, *in vitro* — et il faut être très prudent avant d'affirmer que les résultats d'expériences menées dans ces conditions correspondent aux phénomènes naturels — la qualité et la quantité des sources de C et d'N disponibles et la composition du peuplement microbien — celle-ci dépend d'ailleurs en partie de ceux-là — peuvent influer sur la vitesse et le mode de dégradation des débris ligneux. Dans les conditions expérimentales, un lignivore, tel que *Trechispora* sp., paraît favorisé par une activité biologique suffisante, surtout bactérienne, déterminant la minéralisation rapide des aliments carbonés facilement utilisables et des sources d'N. Nous rapprocherons de cette hypothèse le fait que, dans la nature, certaines rendzines agricoles renferment des organismes capables d'attaquer la sciure et de la décolorer (F. JACQUIN, non publié).

Mais il faut se garder des généralisations abusives : ce cas particulier ne doit pas faire oublier que, même dans nos expériences, les milieux pauvres en N assimilable sont, dans l'ensemble, les moins défavorables aux activités lignivores alors que les matières organiques azotées sont inhibitrices. On comprend ainsi la stabilité relative de la lignine dans certains sols forestiers enrichis par des apports périodiques de litières.

Enfin, si l'on admet, comme nous l'avons fait précédemment, qu'une humification satisfaisante des débris ligneux demande le fractionnement de la lignine sous l'action d'un agent de pourriture blanche, si l'on se rappelle que ces derniers sont généralement acidiphiles, on pourra envisager, pour la préparation des composts de sciure, d'ajouter au produit une source minérale d'N en évitant tout agent neutralisant.

Ce sont là des problèmes sur lesquels nous reviendrons dans des travaux ultérieurs.

BIBLIOGRAPHIE

BASARABA (J.). — Effect of vegetable tannins on decomposition of some organic compounds. *Dissert. Abstr.* (1960), **20**/11. 4241.

GUNDERSEN (K.). — Growth of *Fomes annosus* under reduced oxygen pressure and the effect of carbon dioxide. *Nature* (1961) **190**, 649.

HANDLEY (W.R.C.). — Mull and mor formation in relation to forest soils. *Forestry Comm. Bull.* n° 23. 115 pp. Oxford 1954.

HANDLEY (W.R.C.). — Further evidence for the importance of residual leaf protein complexes in litter decomposition and the supply of nitrogen for plant growth. *Plant et Soil* (1961) **15**/1. 37-73.

HUNGATE (R.E.). — Nitrogen content of sound and decayed coniferous woods and its relation to loss in weight during decay. *Bot. Gaz.* (1940), **102**, 382-392.

JACQUIN (F.) et MANGENOT (F.). — Humification *in vitro* d'une sciure de Hêtre. *Plant et Soil* (1959), **9**/4. 377-389.

KNÖSEL (D.). — Über die Wirkung aus Pflanzenresten freiwerdender phenolischer Substanzen auf Mikroorganismen des Bodens. II. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkde.* (1959). **85**/1. 58-66.

MANGENOT (F.). — Recherches méthodiques sur les champignons de certains bois en cours de décomposition. *Rev. gén. Bot.* (1952) *passim.*

MIKOLA (P.). — Studies on the decomposition of forest litter by Basidiomycetes. *Communic. Inst. forest. Fenn.* (1956 publ. 1958) n° 48/2. 1-22.

RISHBETH (J.). — Stump protection against *Fomes annosus*. II. Treatment with substances other than creosote. *Ann. appl. Biol.* (1959). **47**/3. 529-541.

WARCUP (J.H.). — Studies in Basidiomycetes in soil. *Trans. brit. myc. Soc.* (1959) **42**/1. 45-52.
